

**ВЛИЯНИЕ ГИПЕРГЛИКЕМИИ НА ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ
АКТИВНОСТИ КАЛЬЦИЙАКТИВИРУЕМЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ
ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК СОСУДОВ СЕРДЦА ПРИ
ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ**

Майорова С.С., Солодков А.П.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Кальцийактивируемые калиевые каналы большой проводимости ($ВК_{Ca}$ -каналы) играют важную роль в регуляции миогенного тонуса сосудов, и их активность регулируется монооксидом азота, высвобождающимся из эндотелиоцитов [1,4]. Открытие $ВК_{Ca}$ -каналов, расположенных в сарколемме

гладкого миоцита [4], связано с увеличением внутриклеточной концентрации ионов кальция, приводит к выходу ионов кальция из клетки и развитию гиперполяризации мембраны [4]. В свою очередь, гиперполяризация сарколеммы сопровождается закрытием потенциалзависимых, а также чувствительных к растяжению кальциевых каналов и расширению сосуда. При сахарном диабете, а также при стрессе одной из основных причин нарушения сосудистого тонуса является дисфункция эндотелия. В результате этого происходит снижение функциональной активности эндотелиальных факторов гиперполяризации, механизм действия которых [4,5] связан с активацией VC_{Ca} -каналов, а при длительном стрессорном воздействии наблюдается гиперпродукция эндотелиального монооксида азота, сопровождающаяся развитием сосудистой гипотонии. [2]. Ранее было показано, что стресс снижает функциональную активность АТФ-чувствительных и VC_{Ca} -каналов [3]. Однако остается неясным, каким образом изменяется роль VC_{Ca} -каналов в регуляции сократительной активности гладкомышечных клеток сосудов сердца при гипергликемии и ее сочетании со стрессом.

Целью работы было выявить изменение функциональной активности VC_{Ca} -каналов и их роли в ауторегуляции коронарного потока у крыс со стрептозотин-индуцированным сахарным диабетом до и после 6-часового иммобилизационного стресса.

Материалы и методы. Опыты были проведены на крысах-самках Wistar массой 190-210 грамм. Животных разделили на три группы. Первая - контрольная («контроль», $n=7$); во второй группе животным однократно внутрибрюшинно вводили 0.1 мл цитратного буфера («контроль-цитрат», $n=7$); крысам третьей группы внутрибрюшинно вводили стрептозотин, разведенный в цитратном буфере pH 4.5 («гипергликемия», $n=7$). Через 14 дней, у животных оценивали следующие показатели: гипергликемию, глюкозурию, снижение массы тела, проявление таких симптомов, как полидипсия и полиурия. Уровень глюкозы в крови определяли при помощи глюкометра Accu-Chek Aktiv (Германия), в моче - Глюко-Альбу-pH-Уротестом УП «Унитехпром БГУ». Стресс вызывали фиксацией крыс на спине в течение 6 часов.

Объемную скорость коронарного потока (ОСКП) и сократительную функцию миокарда изучали на препаратах изолированного сердца, перфузируемых в условиях постоянного давления, в полость левого желудочка которого вводили латексный баллончик постоянного объема. На первом этапе эксперимента сердце перфузировали раствором Кребса - Хензелейта, на втором - этим же раствором, но с добавлением тетраэтиламмония (ТЭА) в концентрации 1мМ, которая селективно блокирует именно VC_{Ca} -каналы [4]. В ходе опыта перфузионное давление ступенчато повышали от 40 до 120 мм рт.ст. с шагом в 20 мм рт. ст. (коронарная ауторегуляция). Функциональную активность VC_{Ca} -каналов определяли как процент изменения ОСКП, вызванного введением в перфузионный раствор ТЭА. Цифровой материал обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента и программы "Statistica 6.0".

Результаты и обсуждения. Через две недели после внутрибрюшинного введения стрептозотина наблюдалось увеличение уровня глюкозы в крови в среднем в 5 раз ($26,1 \pm 1,7$ ммоль/л против $5,2 \pm 0,9$ ммоль/л в контроле, $p < 0,05$). В моче обнаруживались кетоновые тела и глюкоза. В группе животных, которым

однократно вводили цитратный буфер концентрация глюкозы в крови ($5,7 \pm 1,1$ мМоль/л), а также ОСКП, индекс ауторегуляции, максимальный гиперемический коронарный поток, коронарный расширительный резерв и сократительная функция миокарда не отличалась от контроля. В связи с этим в дальнейшем сравнение полученных результатов проводили по отношению к значениям, полученным при исследовании животных, получавших однократную инъекцию цитратного буфера («контроль-цитрат»), обозначая ее как контрольную.

В изолированных сердцах крыс с гипергликемией при всех уровнях перфузионного давления наблюдалось увеличение ОСКП по сравнению с контрольной группой животных в среднем на 24% ($p < 0,05$). При этом индекс ауторегуляции снижался при перфузионном давлении 40-80 мм рт.ст. на 41%, что может быть связано с уменьшением тонуса сосудов сердца. Благодаря тому, что максимальный гиперемический коронарный поток увеличился при перфузионном давлении 80 и 120 мм рт.ст. на 13 и 16% соответственно коронарный расширительный резерв не изменился. Развиваемое внутрижелудочковое давление в изолированных сердцах крыс с гипергликемией также не изменялось, однако интенсивность перфузии возросла в среднем на 53% ($p < 0,05$), что свидетельствовало о развитии явления гиперперфузии миокарда, вызванной снижением тонуса сосудов сердца и нарушением их способности к ауторегуляции.

После перенесенного 6-часового иммобилизационного стресса ОСКП, индекс ауторегуляции, максимальный гиперемический коронарный поток изменялись в той же степени, как и в группе животных с гипергликемией. Коронарный расширительный резерв не изменялся. Под влиянием иммобилизации развиваемое внутрижелудочковое давление при перфузионном давлении от 40 до 80 мм рт.ст. снижалось в среднем на 21% по сравнению с контролем, а интенсивность перфузии увеличилась на 51% ($p < 0,05$), что, как и при гипергликемии, свидетельствовало о развитии явления гиперперфузии миокарда, вызванной постстрессорной гипотонией коронарных сосудов. Таким образом, при иммобилизационном стрессе нарушение тонуса коронарных сосудов происходило в той же степени, как и при гипергликемии.

В группе животных перенесших иммобилизационный стресс на фоне гипергликемии ОСКП оставалась такой же, как у крыс с повышенным содержанием глюкозы в крови и увеличенной в среднем на 25% по сравнению с контролем (в группе животных без гипергликемии после стресса на 27%, $p < 0,05$ по сравнению с контролем); индекс ауторегуляции снизился на 42% (в группе животных подвергнутых стрессу с нормальным содержанием глюкозы в крови на 36%, $p > 0,05$ и при гипергликемии на 41% $p > 0,05$). Максимальный гиперемический коронарный поток по сравнению с контролем возрос на 20 и 22% при перфузионном давлении 80 и 120 мм рт.ст. ($p < 0,05$; в группе стрессированных животных с нормальным содержанием глюкозы в крови на 23%; и в условиях гипергликемии увеличился на 14%, $p < 0,05$ по сравнению с контролем). Развиваемое внутрижелудочковое давление и коронарный расширительный резерв не изменились. Интенсивность перфузии увеличилась в среднем на 56% ($p < 0,05$ по сравнению с контролем), что не отличалось от животных с гипергликемией и после иммобилизационного стресса в отдельности. Таким образом, при сочетании гипергликемии и иммобилизационного стресса

тонус коронарных сосудов оставался таким же, как и у животных с гипергликемией и стрессированных животных в отдельности.

Под влиянием ТЭА в контрольной группе животных ОСКП снижалась при перфузионном давлении 80 и 120 мм рт.ст. на 26 %, а индекс ауторегуляции возрастал на 61%. Подобный тип реакции коронарных сосудов свидетельствовал о том, что активность ВКС_α-каналов наблюдалась, начиная с внутрисосудистого давления 80-100 мм рт.ст., то есть по достижению судами сердца выраженного тонуса. Максимальный гиперемический коронарный поток при этом уменьшался на 23%, а развиваемое внутрижелудочковое давление и коронарный расширительный резерв не изменялись. Таким образом, блокада ВКС_α-каналов в контрольной группе животных привела к увеличению сосудистого тонуса в области ауторегуляции.

У животных с гипергликемией под влиянием ТЭА наблюдалось снижение ОСКП при перфузионном давлении 60-120 мм рт.ст., однако оно было выражено в меньшей степени, чем в контроле и составило в среднем 17% ($p < 0,05$, для сравнения в контроле на 26%). Индекс ауторегуляции возрос при перфузионном давлении 40-100 мм рт.ст. на 39% ($p < 0,05$, по сравнению с контролем). Максимальный гиперемический коронарный поток, так же, как и ОСКП снизился в среднем на 13 % ($p < 0,05$, в контроле на 23 %), а развиваемое внутрижелудочковое давление и коронарный расширительный резерв не изменялись. Таким образом, в группе животных с повышенным содержанием глюкозы в крови блокада ВКС_α-каналов приводила к повышению тонуса коронарных сосудов, однако коронарokonстрикторная реакция сосудов сердца на введение ТЭА была выражена в меньшей степени, чем в контрольной группе животных. Следовательно, можно предположить, что при гипергликемии происходило снижение функциональной активности ВКС_α-каналов.

Введение в коронарное русло изолированного сердца крыс, перенесших 6-часовую иммобилизацию ТЭА сопровождалось снижением ОСКП при перфузионном давлении 100 и 120 мм рт.ст. на 11%, что было значительно ниже ($p < 0,05$), чем в контрольной группе и в группе животных с гипергликемией. Индекс ауторегуляции увеличился при перфузионном давлении 40-80 мм рт.ст. на 31% ($p < 0,05$, в контроле на 61%), максимальный гиперемический коронарный поток снижался при перфузионном давлении 120 мм рт.ст. 16% ($p < 0,05$, в контроле – на -23%), – то же время при 80 мм рт.ст. оставался таким же, как и до введения ТЭА. Развиваемое внутрижелудочковое давление и коронарный расширительный резерв не изменялись. Таким образом, 6-часовой иммобилизационный стресс так же, как и гипергликемия снижает чувствительную к тетраэтиламмонии функциональную активность ВКС_α-каналов. Не смотря на то, что при введении тетраэтиламмония наблюдалось снижение ОСКП, она все же оставалась достоверно более высокой по сравнению с контрольной группой животных. Это позволяет предположить, что на фоне блокады ВКС_α-каналов сохраняется гиперпродукция монооксида азота, как ранее было показано, имеющая важное значение в развитии постстрессорной гипотонии.

Блокада ВКС_α-каналов в группе животных с гипергликемией после иммобилизационного стресса привела к снижению ОСКП при перфузионном давлении 60 и 120 мм рт.ст., в среднем на 18%, что было ниже, чем в контрольной группе животных ($p < 0,05$, для сравнения в контроле на 26%), и не отличалось от значений в группе «Гипергликемия». Индекс ауторегуляции

увеличился в среднем на 48% (в контроле на 61%, $p<0,03$), у крыс без гипергликемии перенесших иммобилизационный стресс на 31%, $p<0,03$), а у животных с гипергликемией на 39%, $p>0,05$). Максимальный гиперемический коронарный поток снизился на 13%. Развиваемое внутрижелудочковое давление и коронарный расширительный резерв не изменились. Следовательно, при сочетанном воздействии стресса и гипергликемии тетраэтиламмоний-зависимая чувствительность кальцийактивируемых калиевых каналов оставалась такой же, как и у животных с гипергликемией до иммобилизационного стресса.

Выводы:

1. У крыс с гипергликемией наблюдалось значительное увеличение объемной скорости коронарного потока и снижение индекса ауторегуляции сосудов сердца, что было вызвано снижением их миогенного тонуса.

2. При сочетанном воздействии гипергликемии и иммобилизационного стресса тонус коронарных сосудов оставался таким же, как и в группах животных с повышенным содержанием глюкозы в крови или после иммобилизационного стресса.

3. Гипергликемия приводила к снижению функциональной активности ВКса-каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов.

4. Иммобилизационный стресс на фоне гипергликемии не оказал влияния на функциональную активность ВКса-каналов.

Литература

- 1 Грибкова, И.В. Исследование действия NO на кальцийактивируемый калиевый канал гладкомышечных клеток артерии крысы / И.В. Грибкова, Р. Шуберт, В.Н. Серебряков // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова – 2002 – № 9, – С. 1199-1200.
- 2 Солодков, А.П. Коронарное кровообращение и стресс: монография / А.П. Солодкову – Витебск, 2003 – 187 с.
- 3 Участие АТФ-чувствительных калиевых каналов в ауторегуляции коронарного кровотока при ограничении двигательной активности крыс / А.П. Солодков, С.С. Лазуко // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова – 2005. – Т. 91, № 10. – С. 1149-1161.
- 4 Role for endothelium derived hyperpolarizing factor in vascular tone in rat mesenteric and hind limb circulations in vivo / H.C. Parkington [et al.] // J. Physiol. – 2002 – Vol. 542. – P. 929–937.
- 5 Calcium-Activated Potassium Channels and the Regulation of Vascular Tone / J. Ledoux [et al.] // Physiology. – 2006. – Vol. 21, N. 1. – P. 69-78.